·论著·

# 电针联合芍药甘草汤改善卒中后肢体痉挛大鼠突触重塑的研究

尚颖[1]，王菲[2]，黄雅琪[1]，马小宁[3]，张生富[2]，许能贵[1*]，郭斌[1，2*]

1.510000 广东省广州市，广州中医药大学针灸康复临床医学院华南针灸研究中心
2.750004 宁夏回族自治区银川市，宁夏医科大学中医学院
3.750021 宁夏回族自治区银川市，宁夏大学物理学院
*通信作者：郭斌，教授；E-mail：guo12200055@163.com

【摘要】 **背景** 目前针药结合治疗脑卒中后肢体痉挛疗效尚佳，但其机制不明。**目的** 观察电针联合芍药甘草汤对卒中后肢体痉挛大鼠运动功能及 M1 区突触重塑的影响。**方法** 2022 年 11 月—2023 年 6 月，选取健康雄性 SD 大鼠 72 只，7 周龄，最终纳入 60 只。依据随机数字表法将大鼠分为空白组、模型组、电针组、巴氯芬组、中药组、针药组。于造模后第 1 天至第 6 天进行干预，电针组大鼠行电针患侧“曲池”“阳陵泉”，密波，100 Hz，30 min/ 次，1 次 /d。中药组予芍药甘草汤灌胃 4.2 g/kg，1 次 /d。巴氯芬组以巴氯芬溶液灌胃，5.25 mg/kg，1 次 /d。针药结合组予电针联合中药灌胃，方法和剂量同上，1 次 /d。造模前及造模后第 1、3、6 天行 catwalk 步态分析。第 6 天采集数据后，取脑皮质 M1 区备用。尼氏染色观察 M1 区神经元损伤情况。荧光定量 PCR 技术、Western blotting 法检测 M1 区脑源性神经营养因子（BDNF）、γ- 氨基丁酸（GABA）、神经营养素 3（NT3）含量。电镜观察 M1 区突触生长情况。**结果** 造模后第 3 天针药组大鼠足迹平均强度大于空白组，造模后第 6 天针药组大鼠四足支撑百分比高于空白组（$P<0.05$）。尼氏染色发现针药组与空白组的神经元损伤情况较为接近。荧光定量 PCR 结果显示，针药组大鼠 GABA 表达水平低于空白组，BDNF 表达水平高于空白组（$P<0.05$）。Western blotting 法结果显示，模型组、电针组、巴氯芬组大鼠 GABA、NT3、BDNF 相对蛋白含量低于空白组（$P<0.05$）；中药组、针药组大鼠 GABA、NT3、BDNF 相对蛋白含量高于模型组（$P<0.001$）。电镜发现针药组突触形态较为完整，囊泡量多，前后膜边界清晰，接触边界较长，与空白组相似度更高。**结论** 电针联合芍药甘草汤可以改善卒中后肢体痉挛大鼠的运动功能，其机制可能是通过改善突触可塑性。

【关键词】 脑卒中；电针；芍药甘草汤；突触；肢体痉挛
【中图分类号】 R 743 【文献标识码】 A DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2024.0582

## Shaoyao Gancao Decoction Combined with Electroacupuncture Improves Synaptic Plasticity in Poststroke Spastic Rats

*SHANG Ying[1]，WANG Fei[2]，HUANG Yaqi[1]，MA Xiaoning[3]，ZHANG Shengfu[2]，XU Nenggui[1*]，GUO Bin[1，2*]*
*1.South China Research Center for Acupuncture and Moxibustion，Medical College of Acupuncture-moxibustion and Rehabilitation，Guangzhou University of Chinese Medicine，Guangzhou 510000，China*
*2.School of Chinese Medicine，Ningxia Medical University，Yinchuan 750004，China*
*3.School of Physics，Ningxia University，Yinchuan 750021，China*
**Corresponding author：GUO Bin，Professor；E-mail：guo12200055@163.com*

【Abstract】 **Background** Currently，acupuncture combined with traditional Chinese medicine（TCMherbs shows excellent outcomes in treating poststroke spasticity，but the mechanism remains unclear. **Objective** To observe the effect of Shaoyao Gancao Decoction combined with electroacupuncture on the motor function and synaptic plasticity in the M1 cortex of

基金项目：国家自然科学基金委员会地区科学基金项目（82260967，82460972）；宁夏回族自治区自然科学基金优秀青年项目（2022AAC05030）

引用本文：尚颖，王菲，黄雅琪，等 . 电针联合芍药甘草汤改善卒中后肢体痉挛大鼠突触重塑的研究［J］. 中国全科医学，2025. DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2024.0582.［Epub ahead of print］［www.chinagp.net］

SHANG Y，WANG F，HUANG Y Q，et al. Shaoyao gancao decoction combined with electroacupuncture improves synaptic plasticity in poststroke spastic rats［J］. Chinese General Practice，2025.［Epub ahead of print］

rats with poststroke spasticity. **Methods** From November 2022 to June 2023, 72 healthy male Sprague-Dawley (SDrats with 7 weeks old were included. Finally, 60 rats were randomly divided into the blank group, model group, electroacupuncture group, baclofen group, TCM group, and electroacupuncture combined with TCM group, with 10 rats in each group. The intervention began from the first day after modeling and lasted for 6 days. Electroacupuncture was applied to the "Quchi"( GV20and "Yanglingquan" (GB34acupoints on the affected side, with a dense wave at the frequency of 100 Hz for 30 minutes daily. Daily gavage of Shaoyao Gancao Decoction at a dose of 4.2 g/kg, and 5.25 mg/kg baclofen were given in the corresponding groups. Catwalk gait analysis was tested before modeling and on the 1st, 3rd and 6th day after modeling. The samples were taken on day 6, and nerve cells injury in the M1 cortex was tested by Nissl stain. The expression levels of brain-derived neurotrophic factor( BDNF ), γ-aminobutyric acid (GABA), and neurotrophin-3 (NT3in M1 cortex were detected by fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR and Western blotting. Synaptic plasticity was scanned by transmission electron microscopy (TEM). **Results** Catwalk gait analysis showed a significantly higher average footprint intensity on day 3 in the model group than the blank group ($P$<0.05). The percentage of four-feet stance on day 6 was significantly higher in the electroacupuncture combined with TCM group than the blank group ($P$<0.05). Nissl staining showed similar neuronal damage between the electroacupuncture combined with TCM group and the blank group. QPCR showed a significantly higher mRNA level of BDNF and lower mRNA level of GABA in the electroacupuncture combined with TCM group than the blank group ($P$<0.05). Western blotting showed significantly lower protein levels of GABA, NT3 and BDNF in the model group, electroacupuncture group and baclofen group than the blank group ($P$<0.05). Their protein levels were significantly higher in the TCM group and electroacupuncture combined with TCM group than the model group ($P$<0.001). TEM revealed relatively complete synaptic morphology, great number of vesicles, clear boundaries of the front and rear membranes, and long contact boundary, presenting a similar morphology to the blank group. **Conclusion** Electroacupuncture combined with Shaoyao Gancao Decoction group is effective in treating poststroke spasticity in rats by improving synaptic plasticity.

【Key words】 Stroke; Electroacupuncture; Shaoyao Gancao Decoction; Synapses; Limb spasticity

脑卒中后肢体痉挛常表现为肱二头肌和股四头肌肌张力增加[1]。若不及早干预，常遗留肢体残疾，给患者和社会带来巨大负担。卒中后肢体痉挛病机为肝肾阴亏、风痰瘀阻，多选用益气滋阴熄风、舒筋活血通络的药物进行治疗。因此，当代医家对小续命汤、补阳还五汤、黄芪桂枝五物汤等益气养血、祛风通络的汤剂探索较多。虽有医家对芍药甘草汤、地黄饮子等汤剂进行研究，但多从滋肾养肝柔筋角度切入，联合电针疗法进行科学机制探讨的研究较少[2]。

芍药甘草汤首载于《伤寒论·辨太阳病脉证并治》第二十九条："若厥愈足温者，更作芍药甘草汤与之，其脚即伸"。临床常用于治疗拘挛疼痛、肌张力障碍及胃肠道疾病[3-6]。也有学者发现芍药甘草汤可以抑制大鼠脑缺血再灌注后炎症反应，改善梗死区域神经元活动[7]。肝胆为表里，曲池为大肠经合穴，阳陵泉为胆经合穴。既往研究发现电针"阳陵泉""曲池"能上调海马区谷氨酸及其受体表达，促进脑内突触重塑，缓解肢体痉挛[8]。明代李梴《医学入门·脏腑相通》："心与胆相通，肝与大肠相通"[9]。本研究从"脏腑别通"理论出发，制定芍药甘草汤联合电针"曲池""阳陵泉"方案，选取大脑运动皮质 M1 区，进行痉挛抑制及突触可塑性相关指标进行探索，并与常用西药巴氯芬进行对比，使用 catwalk 步态分析系统采集行为学指标，尼氏染色观察大脑皮质运动区 M1 区神经元损伤情况，荧光定量 PCR、western blotting 技术检测 M1 区 γ-氨基丁酸（γ-aminobutyric acid，GABA）、神经营养素-3（neurotrophin-3，NT3）、脑源性神经营养因子（brain-derived neurotrophic factor，BDNF）含量，电镜观察 M1 区突触生长情况，现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验对象与分组

2022 年 11 月—2023 年 6 月，自广东维通利华实验动物技术有限公司[动物许可证号：SCXK（粤）2022-0063]购买清洁级健康雄性 SD 大鼠 72 只，7 周龄，体质量（270±10）g，饲养于广州中医药大学华南针灸研究中心，温度（26±2）℃，湿度（54±2）%，12 h/12 h 明暗周期，自由饮食饮水。分组：动物适应性饲养 1 周，每周进行 2 次步态行为学训练，剔除无法连续跑完整个数据采集区域的动物 5 只。采用随机数字表法将 SD 大鼠分为空白组和造模大鼠，造模后进行 zea-longa 评分，纳入评分为 2~3 分的动物，剔除死亡及不合格动物 7 只，再将造模成功大鼠依据随机数字表法分为模型组、电针组、巴氯芬组、针药结合组、中药组，每组 10 只。实验全程严格遵照动物伦理规定（广州中医药大学动物伦理申请批号：00343960）。

### 1.2 主要仪器及试剂

实验仪器：脑立体定位仪（瑞沃德公司）、小动物气麻机（瑞沃德公司）、catwalk 步态采集系统（上海欣软公司）、荧光定量 PCR 仪（Thermo 公司）、电针仪（韩氏 200e 型电针仪，北京华卫产业开发公司）、透射电镜（FEI 公司）。

主要试剂：异氟烷（瑞沃德公司）、无水乙醇（广州化学制剂厂）、玫瑰红（索莱宝公司）、中药饮片（广州至信药业）、巴氯芬片（诺华制药，10mg/ 片）、Trizol（索莱宝）、5x RNA loading buffer（索莱宝）、Trans2K® DNA Marker（全式金）、qPCR 试剂盒（全式金）、RIPA 裂解液（碧云天）、BCA 蛋白定量检测试剂盒（碧云天）、SDS-PAGE 配胶制备试剂盒（biosharp），兔源 GABA、NT-3、BDNF 一抗（abcam，货号分别为 ab177483、ab16640、ab108319），β-Actin 一抗（碧云天，货号 AF5003），HRP 标记羊抗兔 IgG 二抗（jackson，货号 111035003），2.5% 戊二醛（国药）。

### 1.3 造模方法

除空白组外，其余 5 组采用改良光栓 + 无水乙醇内囊注射法建立脑卒中肢体痉挛大鼠模型[10-11]。异氟烷（浓度 3%~4%）诱导麻醉，备皮、消毒、铺巾，持续异氟烷麻醉（浓度 1.5%~2.5%），大鼠俯卧位置于脑立体定位仪上，暴露前囟、左侧顶骨、顶骨额骨交界骨缝，棉签蘸取 0.9% 氯化钠溶液擦拭颅骨，直至露出清晰干净骨面。固定颅骨及门齿，根据《Paxinos and watson 大鼠脑图谱》准确定位至左侧大脑皮质 M1 区（前肢坐标：前囟向左 2.30 mm，前 1.00 mm；后肢坐标：前囟向左 2.00 mm，前后 0.00 mm），使用直径为 0.80 mm 颅骨钻打孔，不突破硬脑膜。腹腔注射玫瑰红（浓度 15 mg/mL，注射剂量 80 mg/kg）。用 532 nm 固定波长激光器定点照射钻孔处，控制激光照射直径为 2 mm，距离硬脑膜 1 cm，强度 54 mW，持续时间 6 min。后调整定位至内囊区（坐标：前囟向左 3.10 mm，尾侧 2.00 mm，纵向 7.20 mm），使用直径为 0.80 mm 颅骨钻打孔，超细针头突破硬脑膜进入至 7.2 mm 深度，5 min 注入 80 μL 无水乙醇，停留 1 min，移除微量注射器，止血，骨蜡密封钻孔，0.9% 氯化钠溶液清理伤口，逐层缝合。

### 1.4 药物制备及灌胃剂量

中药：芍药、炙甘草 3∶1 比例调剂饮片。饮片用蒸馏水浸泡 1 h，武火急煎至沸腾，文火煎煮 2 h，4 层纱布过滤取汁；药渣再次煎煮，过滤取汁，2 次药汁合并，旋蒸浓缩至含生药 1 g/mL，4 ℃冰箱保存备用。按照人与动物药物换算系数计算灌胃剂量，自造模后第 1 天开始灌胃，4.2 g/kg，1 次 /d，连续 6 d。[12]

巴氯芬：巴氯芬片制备浓度为 1 mg/mL 溶液。按人与动物药物换算系数计算剂量，造模后第 1 天开始灌胃，5.25 mg/kg，1 次 /d，连续 6 d。[13]

### 1.5 针刺方法

根据《实验针灸学》[14]动物针灸穴位图谱定位患侧阳陵泉、曲池。大鼠异氟烷（浓度 1.5%~2.5%）维持麻醉，穴位常规消毒，0.5 寸针灸针（华佗牌，0.25×13）直刺，捻转角度 90°~180°，频率 60~90 次 /min，持续 1 min。夹持电极，参数：密波，100 Hz，电流强度 1~3 mA，以肢体轻抖为度。时间：30 min/ 次，1 次 /d，连续 6 d。

### 1.6 干预、取材

干预措施：空白组、模型组蒸馏水灌胃 1 mL/d，持续低流量麻醉 30 min/d。电针组：蒸馏水灌胃 1 mL/d，电针。巴氯芬组：巴氯芬溶液灌胃，持续低流量麻醉 30 min/d。针药结合组：电针，中药灌胃。中药组：中药灌胃，持续低流量麻醉 30 min/d。

取材：连续干预 6 d，24 h 内完成取材。10% 水合氯醛 4 mL/kg 腹腔注射处死动物，冰盘内快速断头剥离大脑。部分取左侧脑皮质 M1 区 1 $mm^3$，浸泡于 2.5% 戊二醛固定，剩余 M1 区组织液氮速冻，储于 -80 ℃冰箱备用。部分直接取全脑，纯水冲洗干净后，浸泡于 10% 多聚甲醛中固定备用。

### 1.7 指标采集

1.7.1 catwalk 步态行为学检测：造模前及造模后第 1、3、6 天采集步态信息。将动物提前 2 h 放入实验房间，确保房间安静无异味。调整系统参数，保证动物头部向前，连续不停顿通过数据采集区域玻璃板，至少采集 3 次合格数据，取出动物，清洁箱体。观察指标为足迹平均强度、最大触地面积、摆动速度、三支撑时相比、四足支撑百分比。[15]

1.7.2 尼氏染色：石蜡切片脱蜡，甲苯胺蓝染料染色 10 min，95% 酒精分化，烘干，二甲苯透明 5 min，中性树胶封片。[16]

1.7.3 荧光定量 PCR 检测：组织裂解，提纯 RNA，反转录。取引物 2 μL，按试剂盒说明配成 PCR 反应体系，按以下顺序反应，94 ℃ 2 min 变性，94 ℃ 5 s、60 ℃ 30 s 循环 45 次，冷却。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析目标基因表达。引物序列见表 1。

1.7.4 Western blotting 检测：组织清洗研磨，提取蛋白质，BCA 法测定蛋白浓度。按说明书制胶，按说明书稀释抗体至合适浓度（1∶1 000）。各组样本进行凝胶电泳，电压 100 V。PVDF 膜浸入甲醇中活化 1 min，转膜液中冰浴转模。放入 5% 脱脂奶粉，振荡封闭 30 min。一抗孵育，4 ℃过夜。TBST 洗 3 次，每次 5 min。二抗孵育 30 min。TBST 洗 3 次，各 5 min。滴加 ECL 混合溶液，发光显影。用 Image-Pro Plus 软件分析目标带的光密度值。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列
Table 1 qPCR primer sequence

| 名称 | 引物序列 |
|---|---|
| GABA | F：5′-AGTGCCAGAAATTCCCTCCCAAAG-3′<br>R：5′-CAATCAGAGCCGAGAACACGAAGG-3′ |
| NT3 | F：5′-GGACTGATGCTTGTCACTGTCGTAG-3′<br>R：5′-GCCTCTGCGTGCTGCTGAAG-3′ |
| BDNF | F：5′-TGGAACTCGCAATGCCGAACTAC-3′<br>R：5′-TCCTTATGAACCGCCAGCCAATTC-3′ |
| GAPDH | F：5′-TGCTGGTGCTGAGTATGTGGTG-3′<br>R：5′-TCTTCTGGGTGGCAGTGATGG-3′ |

注：GABA=γ-氨基丁酸，NT3=神经营养素-3，BDNF=脑源性神经营养因子。

1.7.5 电镜观察 M1 区突触生长情况：取出 2.5% 戊二醛固定好的 M1 区组织，锇酸固定，脱水，渗透，包埋，超薄切片（80 nm），铅铀双染，室温干燥过夜，透射电镜下采集图像。

**1.8 统计学方法**

采用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据分析。对符合正态分布的数据进行单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD 法；不符合正态分布的数据进行秩和检验，*P*<0.05 有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 catwalk 步态分析**

6 组大鼠建模后第 3 天足迹平均强度、最大触地面积比较，第 6 天摆动速度、三支撑时相比、四足支撑百分比比较，差异有统计学意义（*P*<0.05）；其中模型组、巴氯芬组、针药组大鼠建模后第 3 天足迹平均强度大于空白组，差异有统计学意义（*P*<0.05）；模型组大鼠建模后第 3 天最大触地面积大于空白组，差异有统计学意义（*P*<0.05）；模型组、电针组、中药组大鼠建模后第 6 天摆动速度低于空白组，差异有统计学意义（*P*<0.05）；电针组大鼠建模后第 6 天三支撑时相比低于空白组，差异有统计学意义（*P*<0.05）；针药组大鼠建模后第 6 天四足支撑百分比高于空白组，差异有统计学意义（*P*<0.05）。6 组大鼠建模后第 3 天摆动速度、三支撑时相比、四足支撑百分比比较，第 6 天足迹平均强度、最大触地面积比较，差异无统计学意义（*P*>0.05），见表 2。

**2.2 尼氏染色**

空白组神经元细胞完整，胞质内可见斑片状或虎斑样尼氏小体，核仁明显。模型组尼氏小体固缩坏死，胞体溶解液化成空泡样结构。对比模型组，电针组及巴氯芬组有少量完整胞体，但细胞水肿明显。中药组及针药组见少量空泡样结构，神经元形态较好，核仁清晰，内可见尼氏小体，其中针药组神经元数量更多（图 1）。

**2.3 荧光定量 PCR 检测**

6 组大鼠 GABA、BDNF 表达水平比较，差异有统计学意义（*P*<0.05）；其中巴氯芬组大鼠 GABA 表达水平低于空白组，差异有统计学意义（*P*<0.05）；针药组大鼠 GABA 表达水平低于空白组，BDNF 表达水平高于空白组，差异有统计学意义（*P*<0.05）。6 组大鼠 NT3 表达水平比较，差异无统计学意义（*P*>0.05），见表 3。

**2.4 Western blotting 检测**

6 组大鼠 GABA、NT3、BDNF 相对蛋白含量比较，差异有统计学意义（*P*<0.05）；其中模型组、电针组、巴氯芬组大鼠 GABA、NT3、BDNF 相对蛋白含量低于空白组，差异有统计学意义（*P*<0.05）；中药组、针药组大鼠 GABA、NT3、BDNF 相对蛋白含量高于模型组，差异有统计学意义（*P*<0.001），见图 2 和表 4。

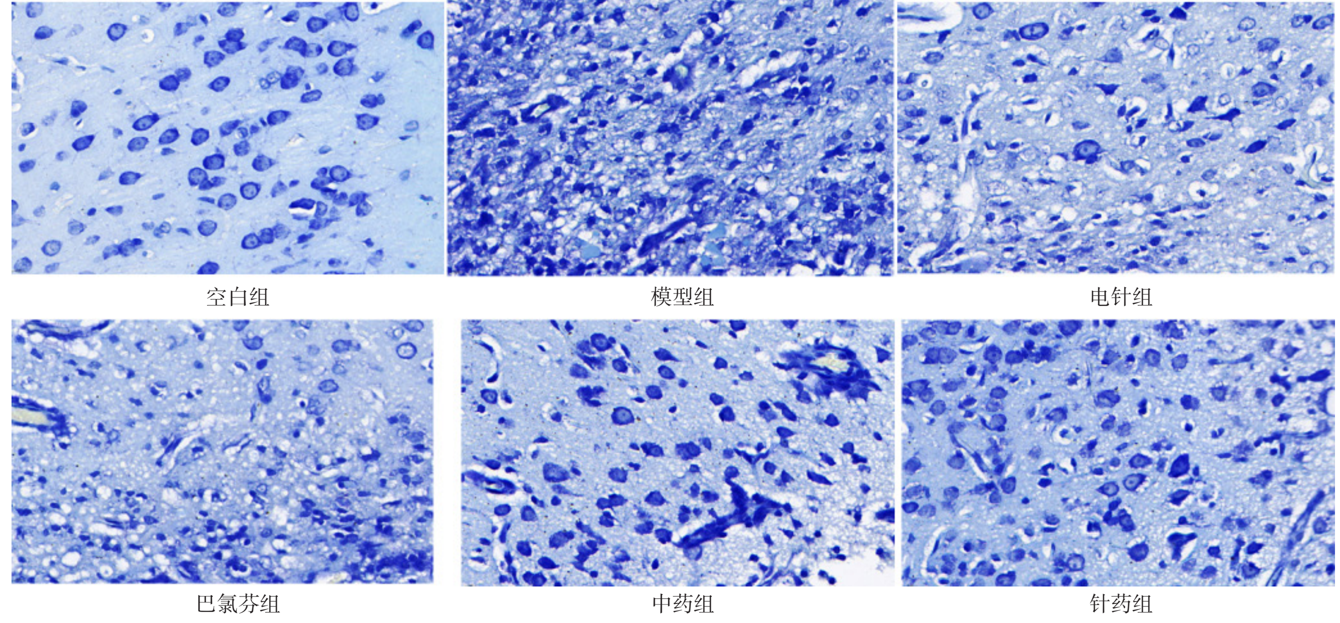
**2.5 电镜观察 M1 区突触生长**

空白组突触数量多，囊泡量多，前后膜边界完整清晰，接触边界较长。模型组突触肿胀，囊泡量少形态不佳，前后膜融合。与模型组相比，电针组前后膜边界较为清晰，巴氯芬组突触形态较好；中药组前后膜边界较为清晰，囊泡量多，突触数量较多；针药组突触形态较为完

表 2 6 组大鼠建模后 catwalk 步态分析（*n*=7）
Table 2 Catwalk gait analysis of rats in six groups after modeling

| 分组 | 足迹平均强度（AU） | | 最大触地面积（cm²） | | 摆动速度（cm/s） | | 三支撑时相比 | | 四足支撑百分比 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 建模后第 3 天 | 造模后第 6 天 | 建模后第 3 天 | 造模后第 6 天 | 建模后第 3 天 | 造模后第 6 天 | 建模后第 3 天 | 造模后第 6 天 | 建模后第 3 天 | 造模后第 6 天 |
| 空白组 | 40.71±10.74 | 49.62±13.81 | 1.24±0.39 | 1.65±0.44 | 100.89±11.76 | 142.58±13.65 | 67.27±7.80 | 72.18±13.72 | 9.67±7.35 | 5.64±4.60 |
| 模型组 | 49.00±7.12[a] | 52.43±9.61 | 0.72±0.20[a] | 1.27±0.28 | 89.65±7.08 | 102.81±21.44[a] | 57.51±15.54 | 65.44±14.80 | 17.71±11.82 | 6.82±6.41 |
| 电针组 | 46.85±5.91 | 50.16±12.91 | 0.90±0.26 | 1.11±0.53 | 98.50±17.27 | 97.52±35.81[a] | 67.65±11.53 | 55.61±16.25[a] | 12.83±10.35 | 8.94±7.62 |
| 巴氯芬组 | 53.33±4.78[a] | 54.27±6.76 | 1.16±0.37 | 1.54±0.51 | 103.13±49.89 | 121.84±32.51 | 64.02±13.65 | 72.04±10.18 | 11.11±6.40 | 7.15±3.95 |
| 中药组 | 41.75±5.67 | 48.19±3.54 | 0.93±0.29 | 1.10±0.36 | 91.61±26.74 | 101.48±15.80[a] | 58.99±10.20 | 73.10±8.33 | 11.77±9.59 | 3.14±5.08 |
| 针药组 | 56.54±6.60[b] | 51.41±4.99 | 1.23±0.50 | 1.46±0.40 | 103.55±33.70 | 120.64±23.56 | 60.24±17.53 | 63.77±8.42 | 10.20±8.10 | 12.19±5.18[a] |
| *F* 值 | 5.277 | 0.380 | 2.581 | 2.200 | 0.342 | 3.409 | 0.800 | 2.466 | 0.721 | 2.447 |
| *P* 值 | 0.001 | 0.859 | 0.043 | 0.072 | 0.884 | 0.011 | 0.557 | 0.048 | 0.612 | 0.049 |

注：[a] 表示与空白组比较 *P*<0.05，[b] 表示与空白组比较 *P*<0.001。




注：细胞核为淡蓝色，尼氏小体为深蓝色，背景为无色。

**图 1** 大鼠脑皮质 M1 区尼氏染色图（甲苯胺蓝，×100）

**Figure 1** The Nissl bodies in M1 of rats in each group

**表 3** 荧光定量 PCR 检测 M1 区 GABA、NT3、BDNF 表达水平比较（$n$=6）

**Table 3** qPCR detection of mRNA levels of BDNF，GABA and NT3 in M1

| 组别 | GABA | NT3 | BDNF |
|---|---|---|---|
| 空白组 | 1.12 ± 0.26 | 0.69 ± 0.34 | 1.00 ± 0.20 |
| 模型组 | 0.98 ± 0.32 | 0.75 ± 0.15 | 1.32 ± 0.83 |
| 电针组 | 0.94 ± 0.29 | 0.51 ± 0.27 | 1.34 ± 0.62 |
| 巴氯芬组 | 0.60 ± 0.19[a] | 0.55 ± 0.24 | 1.24 ± 0.61 |
| 中药组 | 1.22 ± 0.38 | 0.81 ± 0.40 | 1.14 ± 0.43 |
| 针药组 | 0.55 ± 0.27[a] | 0.60 ± 0.21 | 2.21 ± 0.92[a] |
| $F$ 值 | 5.172 | 1.104 | 2.618 |
| $P$ 值 | 0.002 | 0.379 | 0.044 |

注：[a] 表示与空白组比较 $P$<0.05。

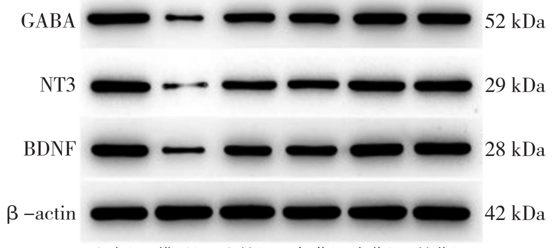



**图 2** Western blotting 检测 M1 区 GABA、NT3、BDNF 相对蛋白含量（$n$=4）

**Figure 2** Western blotting bands of GABA，NT3 and BDNF proteins in M1 of rats in each group

整，囊泡量多，前后膜边界清晰，接触边界较长（图 3）。

**表 4** 6 组大鼠 M1 区 GABA、NT3、BDNF 相对蛋白含量比较（$n$=4）

**Table 4** Comparison of proteins expressions of GABA，NT3 and BDNF in M1 of rats in each group

| 组别 | GABA/β-actin | NT3/β-actin | BDNF/β-actin |
|---|---|---|---|
| 空白组 | 0.92 ± 0.05 | 0.98 ± 0.11 | 1.01 ± 0.11 |
| 模型组 | 0.21 ± 0.04[a] | 0.11 ± 0.07[a] | 0.28 ± 0.02[a] |
| 电针组 | 0.59 ± 0.03[a] | 0.58 ± 0.04[a] | 0.60 ± 0.04[a] |
| 巴氯芬组 | 0.60 ± 0.04[a] | 0.61 ± 0.06[a] | 0.61 ± 0.04[a] |
| 中药组 | 0.84 ± 0.04[b] | 0.87 ± 0.13[b] | 0.82 ± 0.07[b] |
| 针药组 | 0.94 ± 0.12[b] | 0.92 ± 0.22[b] | 0.90 ± 0.08[b] |
| $F$ 值 | 84.145 | 26.727 | 59.912 |
| $P$ 值 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

注：[a] 表示与空白组比较 $P$<0.05；[b] 表示与模型组比较 $P$<0.001。

## 3 讨论

脑卒中后肢体痉挛常遗留肢体残疾，在发病早期进行干预可减少运动障碍的发生。中风病机有虚（阴虚、气虚）、火（肝火、心火）、风（肝风）、痰（风痰、湿痰）、气（气逆）、血（血瘀）六端[17]。明朝医家李梴提出：“肝病宜疏通大肠”[9]。曲池作为大肠经合穴，临床除了治疗大肠经疾病，也常用于缓解上肢的痉挛、炎症、疼痛症状[18]；阳陵泉是胆经合穴，同时也是医生治疗中风及肢体经络疾病的常用穴位[8]。芍药甘草汤作为国家中医药管理局公布的《古代经典名方目录(第一批)》[19]中所载方剂，因其临床疗效传承至今。有

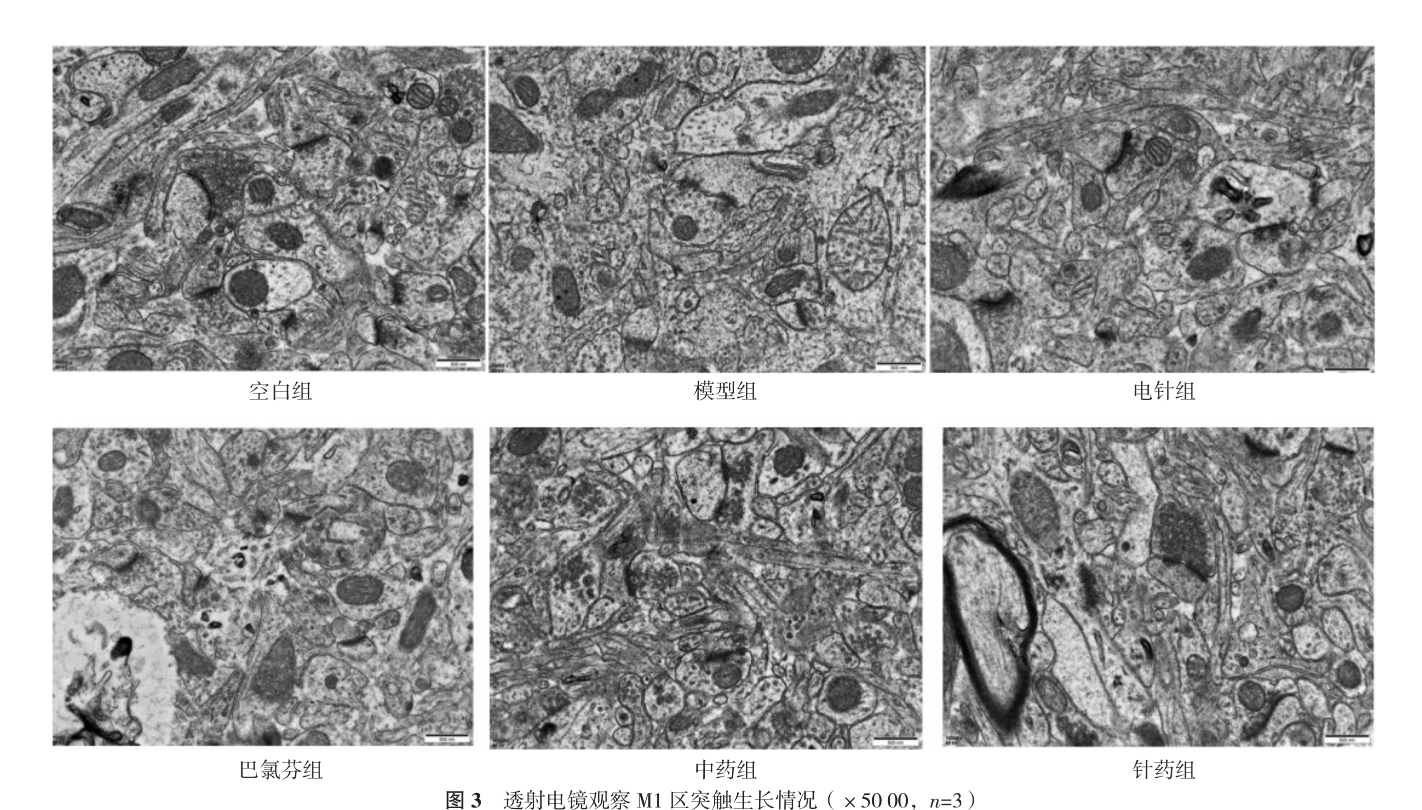



**图 3** 透射电镜观察 M1 区突触生长情况（×50 00，$n$=3）

**Figure 3** Transmission electron microscopy visualizing the synaptic ultrastructure in M1 neurons of rats

学者对涉及芍药甘草汤的古今文献进行分析，制作桑基图发现，芍药甘草汤主要功能主治按频次从高到低依次是伤寒类病、腹痛、咳嗽等，其中阴伤后肢体挛急归为伤寒类[20]。不仅如此，近现代研究表明，芍药甘草汤具有显著的抗炎、解痉、镇痛、保肝效果[21]，联合运动训练[22]和针刺[23]可有效降低患者卒中后肌张力。因此，在既往临床和机制研究的基础上，本研究从“脏腑别通”理论出发，制订芍药甘草汤联合电针“曲池”“阳陵泉”方案，进行科学机制探索。

Catwalk 步态系统以其丰富直观的数据采集优势，常用于评价神经障碍疾病的运动情况[24-25]。本研究选取速度、支撑、接触面积相关指标进行分析。其中足迹平均强度代表大鼠足迹踩踏强度的平均值。当有一条肢体痉挛强直无法支撑身体时，其余三条肢体需要分别承担起更多的重量，必然会对玻璃板产生更大压力。最大触地面积指一次采集时间段内，大鼠爪子与玻璃板的最大接触面积。当肢体无法支撑身体的重量时，肢体近端与玻璃板接触，代偿远端支撑力的不足，拖动远端向前行走，爪子与玻璃板接触面积相应减小。摆动速度指大鼠运动时肢体交替摆动的速度。肌群僵直时，身体的力学稳态被破坏，运动协调性降低，交替摆动受阻，速度下降。三支撑时相比指三足支撑时间在整个步幅周期所占百分比。四足动物正常行走时，至少一条肢体会保持在运动状态，三足支撑作为最稳定的三角结构，在整个采集周期中大量出现，故而在正常行走的个体中，三足支撑时间较长[26]。肌肉痉挛时，患肢可能会出现关节强直导致远端爪子拖拽，三足支撑时间相应减少。四足支撑百分比指四足同时支撑玻璃板周期占总支撑周期的百分率。四足支撑常见于动物静止状态或步伐交替的间隙，运动过程中大量出现说明动物肢体协调性差，需要重新调整步伐以保持身体的稳定。本研究中针药组三支撑时相比较低、四足支撑百分比极高，但结合摆动速度等其他指标，考虑为动物肢体痉挛缓解，摆动速度较快，导致稳定性变差，故而频繁出现步伐调整，且通过调整能够保持身体稳定，合格跑完整个采集区域，说明针药组对运动障碍的整体调整效果较好。

在中枢神经系统中，小胶质细胞诱导的神经炎症会加速神经元的凋亡[27]。尼氏小体位于神经元胞体和树突内，由粗面内质网和游离核糖体组成。当神经元损伤时，尼氏体变化最敏感，主要表现为溶解和消失，因而尼氏体常作为观察神经元损伤和再生的标志物[28]。GABA 是大脑皮质中主要的抑制性递质，主要分布于抑制性突触囊泡和神经元胞体、树突中，与谷氨酸共同维持中枢神经系统的兴奋－抑制平衡。卒中后 GABA 代谢异常，可引发突触功能障碍，高位中枢抑制作用减弱，下级神经元异常兴奋，是卒中后肢体痉挛的可能机制[29]。小胶质细胞可以平衡抑制性突触和兴奋性突触的成熟和重塑[30]。BDNF 是哺乳动物大脑中分布最广泛的神经营养因子之一，在突触的生长发育和可塑性中发挥重要作用，能影响突触传递效能[31-32]。有学

者在小鼠中使用转基因技术，使其小胶质细胞过表达BDNF，改善了损伤脊髓的血供、促进了新血管生成，并促进了后肢运动功能的恢复[33]。NT3是神经营养因子家族的重要成员，介导神经胶质细胞沿神经元轴突生长，促进轴突再生[34]。在中风动物的患肢中注射NT3，能诱导脊髓中存活的神经元轴突越过身体中线向患侧生长[35]。NT3也可以抑制急性脑卒中患者外周血中的免疫反应，降低应激状态下单核细胞和$CD_4^+$、$CD_8^+$ T细胞的百分比[36]。突触作为神经信号传递的主要场所，其结构完整性是功能正常的基础，突触数量、前后膜接触面积、后致密带厚度、间隙宽度和囊泡的数量，是反映突触可塑性的重要指标[37]。小胶质细胞能调节突触的成熟和功能，该细胞与炎症反应密切相关，在不同环境下可发挥抑炎或促炎作用[30]。已有学者发现，高频电针能提高阿尔茨海默病大鼠的突触后致密带厚度、降低突触间隙[38]。电针"曲池""阳陵泉"能调控小胶质细胞的极化状态[39]。既往研究指出，芍药甘草汤能促进大鼠大脑皮质和纹状体中炎症因子白介素13（IL-13）表达，进而激活JAK2/STAT6信号通路，促进小胶质细胞从M1表型变为M2表型，改善大鼠的神经功能[40]。本研究中，电针组、中药组、针药组突触结构较模型组都有改善，针药组表现最好，据此推测在卒中后肢体痉挛治疗过程中，从中枢到外周神经系统，电针联合芍药甘草汤可能在调控炎症及小胶质细胞方面发挥协同作用，进而影响神经元的凋亡和突触重塑。探索芍药甘草汤中的有效单体成分对梗塞缺血半暗带的炎症反应和小胶质细胞的影响，将会是本课题组进行下一步研究的可能方向。

## 4 小结

电针联合芍药甘草汤可以改善卒中后肢体痉挛大鼠的运动功能障碍，其机制可能是通过改善突触重塑。

作者贡献：尚颖参与设计实验实施方案，并进行动物造模、行为学干预及数据分析、统计分析并撰写文章草稿；王菲、黄雅琪参与设计实验实施方案，进行动物造模、行为学干预、取材、数据收集；马小宁参与数据收集、统计分析；张生富参与行为学干预、取材、数据收集；许能贵、郭斌参与设计文章的研究思路、整体监督管理、审校和质控。

本文无利益冲突。

## 参考文献

[1] 张秦墉，马良宵，王俊翔，等. 运动头针法抗卒中后痉挛效应的电生理机制研究[J]. 针刺研究，2023，48（10）：986-992. DOI：10.13702/j.1000-0607.20220920.

[2] 李梦佳，徐西元. 中西医治疗脑卒中后肢体痉挛性瘫痪概述[J]. 河南中医，2023，43（6）：948-956. DOI：10.16367/j.issn.1003-5028.2023.06.0190.

[3] 朱飞叶，谢冠群，徐珊. 芍药甘草汤对慢传输型便秘大鼠SCF/c-kit信号途径的影响[J]. 中华中医药杂志，2016，31（6）：2331-2333.

[4] 张芳，仝秀清，汪瑞霞. 加味芍药甘草汤联合针刺治疗脑卒中后肌痉挛疗效观察[J]. 四川中医，2022，40（11）：154-156.

[5] 晏振东，李艳鹏，张佳琪，等. 从芍药甘草汤方证与药量探讨胞轮振跳的治疗[J]. 中国中医眼科杂志，2024，34（1）：53-55. DOI：10.13444/j.cnki.zgzyykzz.2024.01.010.

[6] 何毅豪，王冰，杨骏，等. 基于网络药理学和体外细胞实验探讨芍药甘草汤治疗溃疡性结肠炎的作用机制[J]. 上海中医药大学学报，2022，36（6）：59-69. DOI：10.16306/j.1008-861x.2022.06.010.

[7] ZHANG Y，JIA X L，YANG J，et al. Effects of Shaoyao-Gancao decoction on infarcted cerebral cortical neurons：suppression of the inflammatory response following cerebral ischemia-reperfusion in a rat model[J]. Biomed Res Int，2016，2016：1859254. DOI：10.1155/2016/1859254.

[8] 郭斌，王彭汉，黄麟荇，等. 电针、加味芍药甘草汤及针药结合对脑卒中肢体痉挛模型大鼠海马突触超微结构及可塑性蛋白的影响[J]. 中医杂志，2021，62（2）：151-157. DOI：10.13288/j.11-2166/r.2021.02.013.

[9] 李梃. 医学入门[J]. 养生月刊，2017，38（6）：527-529.

[10] UZDENSKY A B. Photothrombotic stroke as a model of ischemic stroke[J]. Transl Stroke Res，2018，9（5）：437-451. DOI：10.1007/s12975-017-0593-8.

[11] 周彤. 成年SD大鼠痉挛性脑损伤模型的建立和健侧颈7神经移位治疗痉挛性脑损伤致手部畸形的临床研究[D]. 石家庄：河北医科大学，2021. DOI：10.27111/d.cnki.ghyku.2021.000127.

[12] 郭斌，李海龙，武润博，等. 电针促进加味芍药甘草汤缓解大鼠脑卒中痉挛状态的疗效及作用机制[J]. 北京中医药大学学报，2021，44（8）：753-763. DOI：10.3969/j.issn.1006-2157.2021.08.012.

[13] 李垚，陈学进. 医学实验动物学[M]. 上海：上海交通大学出版社，2019.

[14] 郭义. 实验针灸学[M]. 北京：中国中医药出版社，2008.

[15] LIU S，WU Q，WANG L Y，et al. Coordination function index：a novel indicator for assessing hindlimb locomotor recovery in spinal cord injury rats based on catwalk gait parameters[J]. Behav Brain Res，2024，459：114765. DOI：10.1016/j.bbr.2023.114765.

[16] 刘同慎，李冰，罗慧琼，等. 尼氏体的甲苯胺蓝组织块染色法[J]. 解剖学杂志，2018，41（4）：474-476. DOI：10.3969/j.issn.1001-1633.2018.04.025.

[17] 吴勉华，石岩. 中医内科学[M]. 5版. 北京：中国中医药出版社，2021.

[18] 吴霞，谭金曲，沈福隆，等. 曲池穴主治病症的古代文献研究[J]. 中医药临床杂志，2021，33（7）：1285-1290. DOI：10.16448/j.cjtcm.2021.0718.

[19] 国家中医药管理局关于发布《古代经典名方目录（第一批）》的通知[EB/OL].（2018-04-13）[2024-11-01]. https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2018-12/31/content_5429153.htm.

[20] 惠晨阳，李晓东，李恒飞，等. 芍药甘草汤的古籍文献研究[J].



中西医结合肝病杂志，2022，32（5）：432-435. DOI：10.3969/j.issn.1005-0264.2022.05.011.

[ 21 ] 冯利梅 . 芍药甘草汤治疗神经病理性疼痛的物质基础与作用机制研究[ D ]. 咸阳：陕西中医药大学，2021. DOI：10.27294/d.cnki.gsxzc.2021.000036.

[ 22 ] 张颖，高宁沁，李擎，等 . 芍药甘草汤联合运动训练治疗脑卒中偏瘫肘关节屈曲痉挛的临床分层研究［ J ］. 中华物理医学与康复杂志，2015，37（2）：107-111.

[ 23 ] 陆军伟，王云，周淼，等 . 醒脑开窍针刺法联合加味芍药汤治疗中风后肢体痉挛的临床疗效［ J ］. 南京中医药大学学报，2023，39（11）：1129-1133. DOI：10.14148/j.issn.1672-0482.2023.1129.

[ 24 ] 刘巍 . 基于 miR-124-CREB-BDNF-ERK 信号通路介导运动训练促进脑梗死大鼠内源性神经干细胞的增殖［ D ］. 广州：南方医科大学，2018.

[ 25 ] UNGVARI Z，MURANYI M，GULEJ R，et al. Longitudinal detection of gait alterations associated with hypertension-induced cerebral microhemorrhages in mice：predictive role of stride length and stride time asymmetry and increased gait entropy［ J ］. Geroscience，2024，46（5）：4743-4760. DOI：10.1007/s11357-024-01210-3.

[ 26 ] 杜莉莎 . 三维动画中四足动物运动规律及动作表现研究［ D ］. 重庆：四川美术学院，2021. DOI：10.27344/d.cnki.gscmc.2021.000271.

[ 27 ] LIU Z Y，YAO X Q，JIANG W S，et al. Advanced oxidation protein products induce microglia-mediated neuroinflammation via MAPKs-NF-κB signaling pathway and pyroptosis after secondary spinal cord injury［ J ］. J Neuroinflammation，2020，17（1）：90. DOI：10.1186/s12974-020-01751-2.

[ 28 ] 陈旭，张毅，侯文，等 . 探讨补肾填精益髓方对大鼠脑出血后 GFAP、尼氏小体表达水平的影响［ C ］// 第十五届中国医师协会神经外科医师年会摘要集 . 深圳，2020：136-146. DOI：10.26914/c.cnkihy.2020.017100.

[ 29 ] NIKBAKHTZADEH M，BORDBAR S，SEYEDI S，et al. Significance of neurotransmitters in cerebral ischemia：understandingthe role of serotonin，dopamine，glutamate，and GABA in stroke recoveryand treatment［ J/OL ］. Cent Nerv Syst Agents Med Chem，2024（2024-08-19）［2024-11-02］. DOI：10.2174/0118715249302594240801171612

[ 30 ] PINTO M J，RAGOZZINO D，BESSIS A，et al. Microglial modulation of synaptic maturation，activity，and plasticity［ M ］// Microglia. Cham：Springer International Publishing，2024：209-219. DOI：10.1007/978-3-031-55529-9_12.

[ 31 ] ZAGREBELSKY M，KORTE M. Form follows function：BDNF and its involvement in sculpting the function and structure of synapses［ J ］. Neuropharmacology，2014，76 Pt C：628-638. DOI：10.1016/j.neuropharm.2013.05.029.

[ 32 ] LU B，NAGAPPAN G，LU Y. BDNF and synaptic plasticity，cognitive function，and dysfunction［ M ］//Neurotrophic Factors. Berlin，Heidelberg：Springer Berlin Heidelberg，2014：223-250. DOI：10.1007/978-3-642-45106-5_9.

[ 33 ] ZENG F Z，LI Y X，LI X Y，et al. Microglia overexpressing brain-derived neurotrophic factor promote vascular repair and functional recovery in mice after spinal cord injury［ J ］. Neural Regen Res，2024. DOI：10.4103/NRR.NRR-D-24-00381.

[ 34 ] KALINICHENKO S G，PUSHCHIN I I，MATVEEVA N Y. Neurotoxic and cytoprotective mechanisms in the ischemic neocortex［ J ］. J Chem Neuroanat，2023，128：102230. DOI：10.1016/j.jchemneu.2022.102230.

[ 35 ] ，PHD S D，PHD M B，et al. Stroke recovery in rats after 24-hour-delayed intramuscular neurotrophin-3 infusion［ J ］. Ann Neurol，2019，85（1）：32-46. DOI：10.1002/ana.25386.

[ 36 ] MÜLLER M L，PEGLAU L，MOON L D F，et al. Neurotrophin-3 attenuates human peripheral blood T cell and monocyte activation status and cytokine production post stroke［ J ］. Exp Neurol，2022，347：113901. DOI：10.1016/j.expneurol.2021.113901.

[ 37 ] ZHU J，GUO H D，SHAO S J. Progress of researches on mechanisms of acupuncture intervention of Alzheimer's disease［ J ］. Zhen Ci Yan Jiu，2012，37（5）：422-427.

[ 38 ] YU C C，WANG Y，SHEN F，et al. High-frequency（50 Hzelectroacupuncture ameliorates cognitive impairment in rats with amyloid beta 1-42-induced Alzheimer's disease［ J ］. Neural Regen Res，2018，13（10）：1833-1841. DOI：10.4103/1673-5374.238620.

[ 39 ] 黄慧源，易丽贞，黄麟荇，等 . 电针调控小胶质细胞极化抑制脑卒中肢体痉挛大鼠脑皮质炎症反应的研究［ J ］. 湖南中医药大学学报，2023，43（12）：2256-2263. DOI：10.3969/j.issn.1674-070X.2023.12.016.

[ 40 ] LU J J，WANG J，YU L，et al. Shaoyao-Gancao decoction promoted microglia M2 polarization via the IL-13-mediated JAK2/STAT6 pathway to alleviate cerebral ischemia-reperfusion injury［ J ］. Mediators Inflamm，2022，2022：1707122. DOI：10.1155/2022/1707122.

（收稿日期：2024-11-10；修回日期：2024-12-30）
（本文编辑：毛亚敏）